Português

Hoefer SE600 Chroma

Padrão de eletroforese dupla refrigerado Gel

SE600X-IM/Portuguese/Rev. C0/05-12

Conteúdo

Informações Importantes – Português

- Se este equipamento é usado numa maneira não especificada por Hoefer, Inc. que a protecção fornecida pelo equipamento pode ser comprometida.
- Este instrumento é projectado para uso de interior de laboratório só.
- Só acessórios e partes aprovaram ou forneceu por Hoefer, Inc. pode ser usada para operar, manter, e servicing este produto.
- Só usa um estoque de poder que é CE marcou ou segurança registrada por um nacionalmente reconhecido testando laboratório.
- A tampa de segurança deve estar em lugar antes de ligar o estoque de poder leva a um estoque de poder.
- Desliga todos controlos de estoque de poder e desconecta os chumbos de poder antes de retirar a tampa de segurança.
- Circulam só água ou 50/50 glicol de água/ethylene pelo exchanger de calor se for assim equiparam. Não ligue o exchanger de calor a uma torneira de água nem qualquer fonte de refrigerante onde a pressão de água é não regulado.
- Nunca introduz anticongelante nem qualquer orgânico solvente em qualquer parte do instrumento. Orgânico solvente causará agressão irreparável à unidade!
- Não opera com temperaturas de buffer acima do máximo especificou especificações técnicas. Superaquecer causará agressão irreparável à unidade!

Duležité Informace – Czech

- Pokud by toto zařízení je použito způsobem, který není podle Hoefer, Inc. ochrana poskytovaná na základě zařízení může být narušena.
- Tento nástroj je určen pro vnitřní použití v laboratoři pouze.
- Pouze příslušenství a části schválen, nebo poskytnutých Hoefer, Inc. mohou být použity pro provoz, údržbu, a údržbě tohoto výrobku.
- zdroj napájení používají jen že je opatřen označením CE osvědčena nebo bezpečnost vnitrostátně uznanými zkušebními laboratoř.
- Bezpečnosti lid musí být zavedena před připojením napájecí zdroj napájení vede k.
- Turn veškeré napájení kontroly vypnuto a odpojit před odběrem energie vede bezpečnostní víko.
- Rozeslat pouze voda nebo 50/50 voda/ethylenglykolu prostřednictvím výměník tepla je li to vybavena. Nemají připojení výměník tepla s vodními setřepná nebo jakékoli chladicí kapaliny zdroje, kde tlak vody je neregulo.
- Nikdy zavést prostředek proti zamrznutí nebo jakákoli organická rozpouštědla do jakékoli části z tohoto nástroje. Rozpustidlům způsobí nenapravitelné poškození jednotka!
- Nejsou provozována s pufru teplotách nad maximální stanovenou technickými specifikacemi. Přehřátí způsobí nenapravitelné poškození jednotka!

Vigtig Information – Danish

- Hvis dette udstyr bruges i en måde ikke specificeret ved Hoefer, Inc. den beskyttelse, som er blevet forsynet af udstyret kan måske svækkes.
- Dette instrument er designet for indendørs laboratoriumbrug bare.
- Bare tilbehør og del godkendede eller forsynede ved Hoefer, Inc. kan måske bruges for drive, funktionsfejl, og betjening dette produkt.
- bruger Bare en strømforsyning, der er CE markerede eller sikkerhed, som er blevet attesteret af en, som nationalt er blevet anerkendt prøve laboratorium.
- Sikkerhedlåget må være på plads før forbinding strømforsyningsblyet til en strømforsyning.
- Drejer alle strømforsyningskontroller af og afbryder kraftblyet før fjerning sikkerhedlåget.
- Cirkulerer bare vand eller 50/50 vand/ethylene glykol gennem varmeveksleren i så fald udrustet. Forbind ikke varmeveksleren til en vandhane eller nogen kølemiddelkilde hvor vandtrykket er unregulated.
- Introducerer Aldrig antifreeze eller noget organisk opløsningsmiddel ind i nogen del af instrumentet. Organiske opløsningsmidler vil forårsage uboelig skade til enheden!
- Driver ikke med stødpudetemperaturer over

maksimummet specificerede tekniske specifikations. Overheding vil forårsage uboelig skade til enheden!

Belangrijke Informatie – Dutch

- Indien deze uitrusting in een manier wordt gebruikt die niet door Hoefer, Inc. is gespecificeerd de bescherming die door de uitrusting is verzorgd kan worden geschaad.
- Dit instrument is voor binnenlaboratoriumgebruik enkel ontworpen.
- Enkel onderdelen en delen keurden goed of leverden door Hoefer, Inc. kan voor het bedienen worden gebruikt, handhavend en onderhouden van dit product.
- gebruik Enkel een netvoeding die CE is markeerde of veiligheid die door een is gecertificeerd die nationaal is herkend testene laboratorium.
- Het veiligheidsdeksel moet in plaats voor het verbinden van de netvoeding leidt tot een netvoeding zijn.
- Doe alle netvoedingscontroles Uit en koppel los de machtleiding voor het verwijderen van het veiligheidsdeksel.
- Circuleer enkel water of 50/50 water/ethyleenglycol door de hitte exchanger zo ja uitrust. Verbind de hitte exchanger naar een waterkraan of koelmiddelbron niet waar de waterdruk niet geregulariseerd is.
- Stel Nooit antivriesmiddel of organische oplosmiddelen in deel van het instrument voor. Organische oplosmiddelen zullen onherstelbare schade aan de eenheid veroorzaken!
- Bedien niet met buffertemperaturen boven het maximum specificeerde technische specificaties. Oververhittend zal onherstelbare schade aan de eenheid veroorzaken!

Important Information – English

- If this equipment is used in a manner not specified by Hoefer, Inc. the protection provided by the equipment may be impaired.
- This instrument is designed for indoor laboratory use only.
- Only accessories and parts approved or supplied by Hoefer, Inc. may be used for operating, maintaining, and servicing this product.
- Only use a power supply that is CE marked or safety certified by a nationally recognized testing laboratory.
- The safety lid must be in place before connecting the power supply leads to a power supply.
- Turn all power supply controls off and disconnect the power leads before removing the safety lid.
- Circulate only water or 50/50 water/ethylene glycol through the heat exchanger if so equipped. Do not connect the heat exchanger to a water tap or any coolant source where the water pressure is unregulated.
- Never introduce antifreeze or any organic solvent into any part of the instrument. Organic solvents will cause irreparable damage to the unit!
- Do not operate with buffer temperatures above the maximum specified technical specifications. Overheating will cause irreparable damage to the unit!

Tärkeää Tietoa – Finnish

- Jos tätä varusteita käytetään tavassa ei määritetty Hoefer, Inc. suojelu ehkäisty varusteille saattaa olla avuton.
- Tämä väline suunnitellaan sisälaboratoriokäytölle vain.
- Vain lisävarusteet ja osat hyväksyivät tai toimitti Hoefer, Inc. oheen ää voi käyttää käyttämiselle, valvoalle, ja servicing tämä tuote.
- Vain käyttää käyttöjännitettä joka on CE merkitsi tai turvallisuus joka on todistanut aidoksi ohi joka on kansallisesti tunnustettnut testaaminen laboratoriota.
- Turvallisuuskansi täytyy olla paikallaan ennen yhdistäminen käyttöjännitelyijyjä käyttöjännitteeseen.
- Kiertää kaikki käyttöjännitevalvonnat ja irrottaa valtalyijyt ennen poistaminen turvallisuuskantta.
- Kiertää vain vesi tai 50/50 vesi/ethyleneä glycol siinä tapauksessa varustetun lämmönvaihtimen läpi. Älä yhdistä lämmönvaihdinta vesinapautukseen eikä jäähdytysnestelähteeseen, missä vesipaine on unregulated.

- Pakkasneste eikä orgaaninen liuotin välineen osassa ei esitele Koskaan. Orgaaniset liuottimet aiheuttavat korvaamattoman vahingon yksikköön!
- Ei käytä puskuria yllä olevia lämpötiloja enintään määritetyillä teknisillä täsmennyksillä. Ylikuumeneminen aiheuttaa korvaamattoman vahingon yksikköön!

Information Importante – French

- Si cet équipement est utilisé dans une manière pas spécifié par Hoefer, Inc. la protection fourni par l'équipement pourrait être diminuée.
- Cet instrument est conçu pour l'usage de laboratoire intérieur seulement.
- Seulement les accessoires et les parties ont approuvé ou ont fourni par Hoefer, Inc. pourrait être utilisé pour fonctionner, maintenir, et entretenir ce produit.
- utilise Seulement une alimentation qui est CET a marqué ou la sécurité certifié par un nationalement reconnu essayant le laboratoire.
- Le couvercle de sécurité doit être à sa place avant connecter l'alimentation mene à une alimentation.
- Tourner tous contrôles d'alimentation de et débrancher les avances de pouvoir avant enlever le couvercle de sécurité.
- Circuler seulement de l'eau ou 50/50 glycol d'eau/éthylène par l'exchanger de chaleur si si équipé. Ne pas connecter l'exchanger de chaleur à un robinet d'eau ou à la source d'agent de refroidissement où la pression d'eau est non régulée.
- Ne Jamais introduire d'antigel ou du dissolvant organique dans n'importe quelle partie de l'instrument. Les dissolvants organiques causeront des dommages irréparables à l'unité!
- Ne pas fonctionner avec les températures de tampon au-dessus du maximum a spécifié des spécifications techniques. La surchauffe causera des dommages irréparables à l'unité !

Wichtige Informationen – German

- Wenn diese Ausrüstung gewissermaßen nicht angegeben durch Hoefer, Inc. verwendet wird, kann der durch die Ausrüstung zur Verfügung gestellte Schutz verschlechtert werden.
- Dieses Instrument wird für den Innenlaborgebrauch nur dafür entworfen.
- Nur Zusätze und Teile genehmigten oder lieferten durch Hoefer, Inc. kann für das Funktionieren, das Aufrechterhalten, und die Wartung dieses Produktes verwendet werden.
- Verwenden Sie nur eine Energieversorgung, die CE gekennzeichnet oder durch ein national anerkanntes Probelaboratorium bescheinigte Sicherheit ist.
- Der Sicherheitsdeckel muss im Platz vor dem Anschließen der Energieversorgung sein führt zu einer Energieversorgung.
- Alle Energieversorgungssteuerungen abdrehen und die Macht trennen führt vor dem Entfernen des Sicherheitsdeckels.
- Nur Wasser oder 50/50 Glykol des Wassers/Äthylens durch den Wärmeaustauscher, wenn so ausgestattet, in Umlauf setzen. Verbinden Sie den Wärmeaustauscher mit einem Wasserklaps oder jeder Kühlmittel-Quelle nicht, wo der Wasserdruck ungeregelt wird.
- Führen Sie nie Frostschutzmittel oder jedes organische Lösungsmittel in jeden Teil des Instrumentes ein. Organische Lösungsmittel werden nicht wiedergutzumachenden Schaden der Einheit verursachen!
- Mit Puffertemperaturen über angegebenen technischen Spezifizierungen des Maximums nicht funktionieren. Die Überhitzung wird nicht wiedergutzumachenden Schaden der Einheit verursachen!

Informazioni Importanti – Italian

- Se quest'apparecchiatura è usata in un modo specificato da Hoefer, Inc. la protezione fornito dall'apparecchiatura potrebbe essere indebolita.
- Questo strumento è disegnato per l'uso di laboratorio interno solo.
- Solo gli accessori e le parti hanno approvato o hanno fornito da Hoefer, Inc. potrebbe essere usato per operare, per mantenere, e per revisionare questo prodotto.
- usa Solo un alimentatore che è CE ha marcato o la sicurezza certificato da un nazionalmente ricon-

osciuto testando il laboratorio.

- Il coperchio di sicurezza deve essere nel luogo prima di collegare i piombi di alimentatore a un alimentatore.
- Spegne tutto i controlli di alimentatore e disinserisce i piombi di potere prima di togliere il coperchio di sicurezza.
- Circola solo l'acqua o 50/50 glicole di acqua/etilene attraverso lo scambiatore di calore se così equipaggiato. Non collegare lo scambiatore di calore a un rubinetto di acqua o qualunque fonte di refrigerante dove la pressione di acqua è sregolata.
- Non introduce mai l'antigelo o qualunque solvente organico in qualunque parte dello strumento. I solventi organici causeranno il danno irreparabile all'unità!
- Non opera con le temperature di tampone al di sopra del massimo ha specificato le descrizioni tecniche. Il surriscaldamento causerà il danno irreparabile all'unità!

Viktig Informasjon – Norwegian

- Hvis dette utstyret blir brukt i en måte ikke spesifisert ved Hoefer, Inc. beskyttelsen som ha blitt git av utstyret kan bli svekket.
- Dette instrumentet er utformet for innendørs laboratoriumbruk bare.
- Bare tilbehør og deler godkjente eller forsynte ved Hoefer, Inc. kan bli brukt for drive, vedlikeholde, og betjene dette produktet.
- bruker Bare en kraftforsyning som er CE merket eller sikkerhet som ha blitt sertifisert av et som nasjonalt ha blitt anerkjent prøver laboratorium.
- Sikkerheten lokket må være på plass før forbinding kraftforsyningene blyene til en kraftforsyning.
- Vender all kraftforsyningsstyring av og frakopler kreftene blyene før fjerning sikkerheten lokket.
- Sirkulerer bare vann eller 50/50 vann/ethylene glykol gjennom oppvarmingen veksleren i så fall utstyrer. Ikke forbind oppvarmingen veksleren til en vanntapp eller noe kjølemiddelkilde hvor vannet trykket er unregulated.
- Introduserer Aldri antifreeze eller noe organisk løsemiddel inn i noe del av instrumentet. Organiske løsemiddler vil forårsake irreparabel skade på enheten !
- Driver med buffertemperaturer over maksimum ikke spesifiserte teknisk spesifikasjoner. Å overopheting vil forårsake irreparabel skade på enheten !

Wazne Informacje – Polish

- Jeżeli ten sprzęt jest wykorzystywany w sposób nie określone przez Hoefer, Inc. do ochrony przewidzianej przez urządzenie może zostać obniżony.
- Instrument ten jest przeznaczony do użytku w laboratoriach kryty tylko.
- Tylko akcesoriów i części zatwierdzone lub dostarczone przez Hoefer, Inc. mogą być wykorzystane do eksploatacji, utrzymania i obsługi tego produktu.
- korzystać jedynie zasilacza że jest noszące oznakowanie CE lub bezpieczeństwa uwierzytelnione przez uznane na poziomie krajowym laboratorium badawcze.
- Bezpieczeństwo lid musi być w miejsce przed podłączeniem zasilania prowadzi do zasilania.
- Zaś wszystkie źródła zasilania urządzenia sterujące off i odłączyć moc prowadzi przed odbiorem bezpieczeństwa lid.
- Krążą tylko wody lub wody 50/50/ethylene glycol wymiennik ciepła poprzez jeśli tak wyposażone. Nie należy połączyć wymiennik ciepła woda z kranu lub jakimkolwiek chłodziwo źródła, jeżeli ciśnienie wody jest nieuregulowanych.
- Nigdy nie wprowadzać rozpuszczalnika organicznego przeciw zamarzaniu lub jakichkolwiek na dowolną część dokumentu. Rozpuszczalniki organiczne spowoduje nieodwracalne szkody dla jednostki!
- Nie działają w buforze temperatury powyżej maksymalnego określone specyfikacje techniczne. Przegrzania spowoduje nieodwracalne szkody dla jednostki!

Información Importante – Spanish

- Si este equipo es utilizado en una manera no especificado por Hoefer, Inc. la protección proporcionado por el equipo puede ser dañada.
- Este instrumento es diseñado para el uso interior

del laboratorio sólo.

- Sólo accesorios y partes aprobaron o suministraron por Hoefer, Inc. puede ser utilizado para operar, para mantener, y para atender a este producto.
- Sólo utiliza una alimentación que es CE marcó o la seguridad certificada por un nacionalmente reconocido probando el laboratorio.
- La tapa de la seguridad debe estar en el lugar antes de conectar la alimentación lleva a una alimentación.
- Apaga todos controles de alimentación y desconecta los plomos del poder antes de quitar la tapa de la seguridad.
- Circula sólo agua o 50/50 glicol de agua/etileno por el intercambiador de calor si ése es el caso equiparon. No conecte el intercambiador de calor a un toque de la agua ni cualquier fuente del líquido refrigerante donde la presión del agua está libre.
- Nunca introduce anticongelante ni algún solvente orgánico en cualquier parte del instrumento. Los solventes orgánicos causarán daño irreparable a la unidad!
- No opera con temperaturas de búfer encima del máximo especificó especificaciones técnicas. Recalentar causará daño irreparable a la unidad!

Viktig Information – Swedish

- om denna utrustning används i ett sätt som inte har specificeras av Hoefer, Inc. skyddet tillhandahöll vid utrustningen kan skadas.
- Detta instrument formges för inomhuslaboratorium användning bara.
- Bara medhjälpare och delar godkände eller levererade vid Hoefer, Inc. kan användas för fungera, underhålla, och servicing denna produkt.
- använder bara en kraft tillgång som är CE markerade eller säkerhet intygade vid en nationellt erkänd testande laboratorium.
- Säkerheten locket måste vara på platsen före koppla kraften tillgången blyen till en kraft tillgång.
- Vänder sig alla kraft tillgång kontroller av och kopplar bort kraften blyen före flytta säkerheten locket.
- Cirkulerar bara vatten eller 50/50 vatten/ethylene glycol genom värmen exchanger i så utrustad fall. Inte kopplar värmen exchanger till en vatten kran eller något kylmedel källa där vattnet trycket är unregulated.
- Inför aldrig kylvätska eller något organiska lösningsmedel in i någon del av instrumentet. Organiskt lösningsmedel ska orsaka irreparable skada till enheten!
- Använd inte med buffert temperaturer över det högsta angivna tekniska specifikationerna. Överhettning skulle orsaka irreparabla skador på enheten!

Resíduos de Equipamentos Eléctricos e Electrónicos (REEE)

Português

Este símbolo indica que os resíduos de equipamentos eléctricos e electrónicos não devem ser eliminados como resíduos urbanos indiferenciados e devem ser recolhidos separadamente. Entre em contato com um representante autorizado do fabricante para obter informações sobre o desmantelamento do seu equipamento.

English

This symbol indicates that the waste of electrical and electronic equipment must not be disposed as unsorted municipal waste and must be collected separately. Please contact an authorized representative of the manufacturer for information concerning the decommissioning of your equipment.

French

Ce symbole indique que les déchets relatifs à l'équipement électrique et électronique ne doivent pas être jetés comme les ordures ménagères non-triées et doivent être collectés séparément. Contactez un représentant agréé du fabricant pour obtenir des informations sur la mise au rebut de votre équipement.

German

Dieses Symbol kennzeichnet elektrische und elektronische Geräte, die nicht mit dem gewöhnlichen, unsortierten Hausmüll entsorgt werden dürfen, sondern separat behandelt werden müssen. Bitte nehmen Sie Kontakt mit einem autorisierten Beauftragten des Herstellers auf, um Informationen hinsichtlich der Entsorgung Ihres Gerätes zu erhalten.

Italian

Questo simbolo indica che i rifiuti derivanti da apparecchiature elettriche ed elettroniche non devono essere smaltiti come rifiuti municipali indifferenziati e devono invece essere raccolti separatamente. Per informazioni relative alle modalità di smantellamento delle apparecchiature fuori uso, contattare un rappresentante autorizzato del fabbricante.

Spanish

Este símbolo indica que el equipo eléctrico y electrónico no debe tirarse con los desechos domésticos y debe tratarse por separado. Contacte con el representante local del fabricante para obtener más información sobre la forma de desechar el equipo.

Gel de eletroforese Função e Descrição

O Hoefer® SE600 Chroma unidade electroforese vertical da laje de gel destina-se a proteína e electroforese de ácido nucleico sob desnaturação geralmente usado e não desnaturante condições. Até 28 amostras podem ser comparados num gel única laje.

As aplicações incluem separações de proteínas, do fraccionamento de ácido nucleico, ea separação dimensão de segundo de electroforese 2-D. Separação primeira dimensão de 2-D electroforese proteína deve ser executada em géis de gradiente de pH imobilizadas. As tiras são focados facilmente transferido para o gel de dimensão-segundo laje para a separação de tamanho.

As placas de gel são de 18 cm de largura por 16 cm de comprimento. Até quatro géis pode ser executado de uma só vez se sanduíches são emparelhadas em “sanduíches”. O trocador de calor permite o controle do buffer de temperatura na câmara baixa.

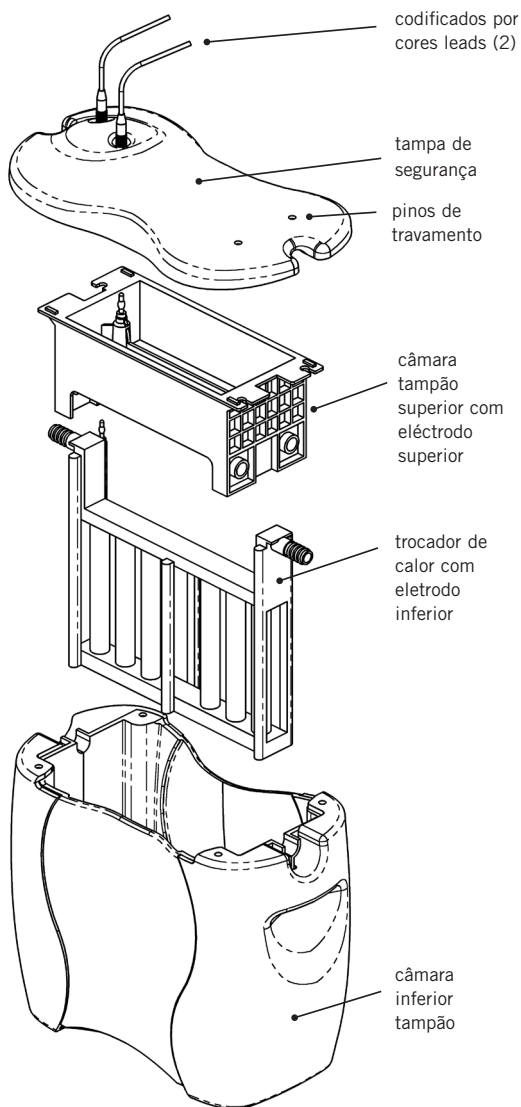
Especificações

Gel tamanho da placa	18 × 16 cm (L × A)
Gel tamanho	14 ou 16 cm × 16 cm (L × A)
Potência máxima	50 W
Tensão máxima	1000 V
Amperagem máxima	500 mA
Temperatura máxima	45 °C
As condições ambientais de operação:	
Uso interno	4 – 40 °C
Humidade até	80%
Altitude de até	2000 m
Categoria Instalação	II
Grau de poluição	II
Dimensões (L × A × P)	32 × 29 × 14 cm
Certificações de produtos	EN 61010-1, UL 61010A-1, CSA C22.2 1010.1, Certificado pela CE

Esta declaração de conformidade é válida apenas para o instrumento quando ele é:

- utilizado em locais de laboratório,
- usado como entregues a partir de Hoefer, Inc., exceto para alterações descritas no manual do usuário, e
- ligado a outros CE-rotulados instrumentos ou produtos recomendados ou aprovados por Hoefer, Inc.

Fig. 1. Principais componentes do SE600 Hoefer Chroma
(ver Fig. 4 para os componentes de rodízio).

Incluídos, mas não apresentados:
- composto Selo Gel, 1/4 oz
- modelo de alinhamento Spacer-Mate
- placas de vidro (6)
- Maravilha Wedge ferramenta de separação placa
- barragem de buffer

Unidade completa também inclui espaçadores (4) e pentes (2).

Obrigatório, mas não incluídas:
- agitador magnético
- Fonte de alimentação com uma classificação mínima de 300 V, 100 mA (constante A ou V)

Opcional: Circulador banho

Nota: A seção de ordenação lista todos os acessórios e peças de reposição.

Desembalar e Inventário

Desembrulhe com cuidado todos os pacotes e comparar o conteúdo com a lista de embalagem, certificando-se todos os itens chegaram. Se qualquer parte estiver faltando, entre em contato com seu escritório de vendas local. Inspecione todos os componentes de danos que possam ter ocorrido quando o aparelho estava em trânsito. Se qualquer parte estiver danificado, contate imediatamente a transportadora. Certifique-se de manter todo o material de embalagem para pedidos de indemnização ou de usar caso seja necessário para devolver a unidade.

Câmara inferior tampão

A câmara inferior tampão é transparente, o que permite um controle visual de processo electroforese. A câmara é quimicamente resistente à comuns buffers electroforéticos, mas não a solventes orgânicos ou de ácidos fortes ou alcalinos. Temperaturas acima de 45 °C pode causar a câmara a entortar.

Câmara tampão superior

A câmara de tampão superior é quimicamente resistente a buffers de electroforese comuns, mas não a solventes orgânicos ou de ácidos fortes ou alcalinos. O eletrodo superior (cátodo) corre ao longo da crista centro e termina na ficha banana. A câmara superior requer 0,5 - 0,8 litros de tampão (encher não acima da parte superior das nervuras de plástico).

Trocador de calor

O trocador de calor deve ser instalado para cada uso, pois abriga o eletrodo inferior (ânodo), que corre ao longo da parte inferior da moldura. Quando ligado a um banho de circulador, o permutador de calor regula a temperatura de tampão na câmara inferior. Refrigerante passa através dos tubos de vidro, que são protegidos com ilhós de borracha de silicone. Os trocadores de calor portas de conexão são 13 mm de diâmetro externo O permutador de calor é avaliado para um máximo de 0,8 atmosferas acima da temperatura ambiente (12 psig). Ligue apenas a fontes de refrigeração com pressão regulada. (Não ligue à torneira de água.)

Tampa de segurança

O plug banana no trocador de calor se conecta o fio vermelho, ea ficha na câmara de amortecimento superior se conecta o cabo preto. A 4 mm envolta com código de cores ficha leva em código de cores tomadas no fornecimento de energia. Envolver-se pinos de travamento antes de baixar conexões de eletrodos para plugues banana.

Sempre instale a tampa de segurança antes de usar!

Placas de vidro

O Chroma SE600 acomoda 18 cm de largura placas de 16 ou 8 cm de comprimento. Placas entalhadas divisor, encomendados separadamente, dividir sanduíches gel para formar "sanduíches" de dois géis cada, de modo até quatro géis pode ser executado de uma só vez.

Grampos

Dois 16 cm grampos são utilizados para fixar a sanduíche de gel. A barra de pressão da braçadeira, ajustado com parafusos, distribui a pressão uniformemente.

Fundição estande

O estande de fundição tem sanduíches gel montadas na posição vertical para a fundição géis. Pés ajustáveis nivelar o rodízio. Uma junta de laminado no fundo de cada berço vedações de fundição na parte inferior da sanduíche quando é fixada no suporte.

Câmaras

Câmaras são usados duas vezes: primeiro para fixar a sanduíche montado no suporte de fundição e, em segundo lugar, para fixar a sanduíche para a câmara de tampão superior.

Juntas de borracha

Há dois conjuntos de duas juntas: As juntas de vedação sólido laminado se encaixam na parte inferior da peça fundida de pé e formar o selo para o vazamento do gel. As juntas de vedação de fenda caber sob a câmara tampão superior e formar a vedação entre as câmaras superior e inferior. As cristas sobre a junta de vedação superior alinhar a ranhura de vedação para manter um canal aberto entre o topo do gel e do tampão na câmara superior.

Espaçadores

Espaçadores determinar a espessura do gel e estão disponíveis em três espessuras (0,75, 1,0 e 1,5 mm) e duas larguras (1 e 2 cm). (Pode ser encomendado em separado.)

Espaçador-Mate modelo de alinhamento

Este modelo se alinha espaçadores durante a montagem do sanduíche.

Combs

Combs estão disponíveis em tamanhos que formam 10, 12, 15, 20 ou 28 poços. Preparativo pentes incluir um ou dois poços de referência em adição a um poço preparativa. A maioria pentes estão disponíveis em todas as três espessuras: 0,75, 1,0 e 1,5 mm. (Pode ser encomendado em separado.)

Todos os pentes preparativa ea 10, 12, 15 e 20 bem poços forma pentes isto é, 25 mm de profundidade. Os 28 poços bem pente formas que são apenas 15 mm de profundidade para que os poços não desmoronar quando o pente é removido. O volume de amostra realizada por cada poço depende da espessura do gel, bem profundidade, e do número de poços por pente.

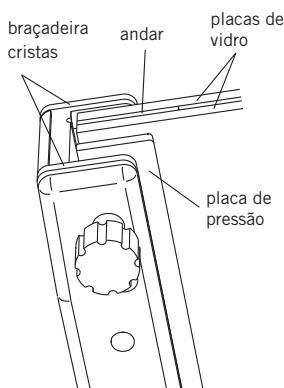
A tabela 1 apresenta volumes de amostras de poços para todos os pentes (ver página 17).

Maravilha Wedge Gel ferramenta Separação Placa

Esta ferramenta é usada para desmontar sanduíches gel e verificar espaçador e pente espessuras.

Instruções de operação

Procedimentos de fundição e eletroforese em gel seguir. Incluem-se as instruções para géis de poliacrilamida (usado com sistemas tampão contínuas ou descontínuas) e géis de gradiente. Consulte a página 31 para bibliografia.

Prepare o sanduíche de gel

Placas de vidro, espaçadores, e conjuntos de fixação são dimensionados de modo que o sanduíche montados podem ser facilmente alinhadas para criar o selo exigido primeiro a lançar o gel e depois executá-lo. Para melhores resultados tomar cuidado extra para alinhar todos os componentes ao montar sanduíches. De um a quatro géis (18 × 16 cm) pode ser montado e executado no Chroma SE600.

Ambos os géis pré-moldados e auto-moldadas géis podem ser utilizados. Para auto-cast géis vários kits podem ser encomendados separadamente: O SE615 Kit Caster múltipla Gel comporta até 10 sanduíches gel simples, ea SE675 Kit Caster Gel tem capacidade para até quatro sanduíches. (Veja a acompanhante gel Manual do Usuário do rodízio para obter instruções completas.) Para executar quatro géis simultaneamente, dois acessórios placas divisórias entalhadas e dois pares de espaçadores adicionais são necessárias.

Fig. 2. Sanduíche de montagem.

Inspecionar placas de vidro para nicks. Use apenas placas unchipped para evitar fugas.

Nota: As placas de vidro e espaçadores tem de estar alinhada com as cristas de fixação, tanto a parte superior e inferior para uma boa vedação.

Nota: Não utilize graxa de silicone ou vaselina para selar o sanduíche. Estas substâncias são difíceis de remover e, finalmente, causar artefactos.

Construa o sanduíche de gel e inserir em rodízio

Prepare o rodízio e grampos

Coloque o nível de álcool no centro de rodízio e ajuste os pés niveladores. Solte todos os parafusos de fixação e abrir espaço para o sanduíche, deslizando as placas de pressão para os parafusos.

Construir sanduíches gel

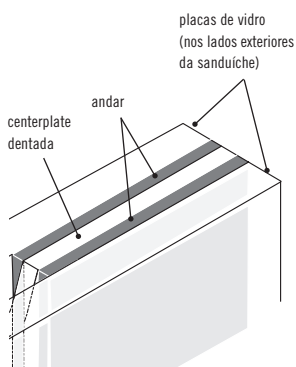
Para cada sanduíche escolher dois perfeitamente limpas, placas de vidro unchipped e dois espaçadores. Lay uma placa sobre uma superfície plana, estabelecem o modelo de alinhamento Espaçador-Mate sobre a placa (lado de largura na parte superior da placa), colocar um espaçador ao longo de cada aresta, e colocar a placa de vidro segundo no topo.

Fixe o sanduíche com grampos

Deslizar uma braçadeira de cada vez ao longo dos lados do sanduíche. Com o dedo, apertar um parafuso em cada pinça, defina o sanduíche de pé sobre uma superfície plana, e soltar o parafuso para alinhar a pilha. Tomar muito cuidado no alinhamento irá garantir uma boa vedação. Com o dedo, aperte todos os parafusos. Remova o espaçador-Mate.

Dica: Use o berço elenco para segurar o sanduíche durante o alinhamento. Remova a junta laminada a partir do berço e, em vez de definir o sanduíche de pé sobre uma superfície plana, coloque-o no berço de fundição.

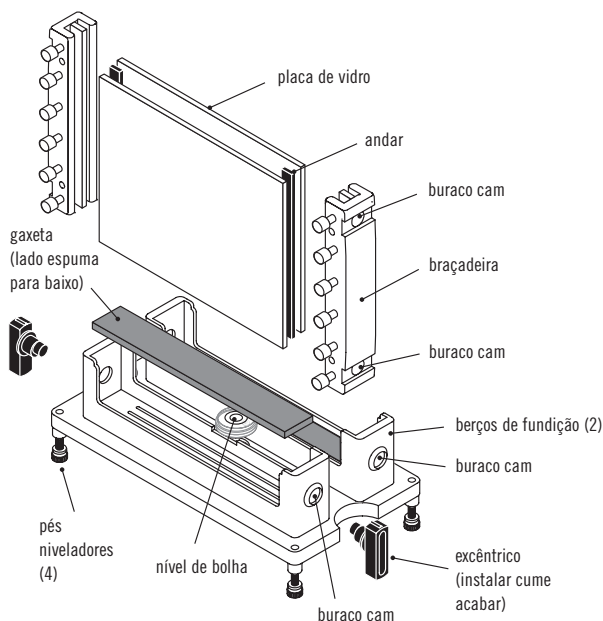
Fig. 3. Montagem sanduíche Club.

Braçadeiras laterais irá acomodar dois espaçadores até 1,5 mm de espessura.

Sanduíche de três andares

A 16 cm de comprimento, placa central divisor dedentada (comprada separadamente) pares de dois sanduíches para dobrar o número de géis que podem ser expressos e executar.

Montar um sanduíche da mesma maneira como um sanduíche regular, excepto antes de colocar a placa de vidro de topo, colocar a placa divisora e um segundo conjunto de espaçadores na pilha. Coloque o entalhe de modo que ele irá estar no topo dos géis. É essencial que os espaçadores e placas de alinhar perfeitamente a fim de selar.

Remover o sanduíche e inspeccionar o fundo para se certificar de que as arestas são alinhados flush para assegurar uma vedação completa. Ajuste, se necessário.

Opcional: Aplicar uma fina película de composto de gel de vedação apenas nas superfícies canto inferior criadas pelos espaçadores e placas se as sanduíches tendem a vazar.

Coloque a junta laminado para dentro do suporte de fundição (Ver Fig. 4) com o lado de espuma para baixo. Coloque o conjunto de grampo no berço de fundição, o parafuso do lado voltado para fora.

Inserir uma câmara dentro do furo em cada lado do tabuleiro de fundição com o rebordo (extremidade curta) a apontar para cima. Selar o sanduíche de gel contra a junta de fundição girando ambos os cames, tanto quanto necessário, geralmente 90 ° - 150 °, até 180 °. A acção de câmara pressionam as placas para baixo para a junta para selar a parte inferior da sanduíche. O selo é completar uma vez que a borda de vidro parece mais escuro e quase transparente contra a junta. Não ligue para além deste ponto.

Nota: Quando ligar as câmaras, é mais fácil manter o rodízio equilibrada se você ligar tanto em direção ao centro da roda.

Fig. 4. Caster componentes e montagem.

Os geles de acrilamida

Preparar a solução de monômero e derramar o gel

Preparar a quantidade necessária de solução de monómero. Deaerate e adicionar o iniciador e catalisador imediatamente antes de verter o gel. Pipetar a solução em um canto do sanduíche, tomando cuidado para não introduzir bolhas de ar. Ver abaixo para o nível da solução apropriada de acordo com a aplicação.

No gel de empilhamento (sistema contínuo)
Encha solução até um pouco abaixo do topo da aresta da placa superior. Se as bolhas estão presos, retire com uma pipeta ou seringa. Introduzir um pente (com uma ligeira inclinação) em cada sanduíche, tomando cuidado para não prender as bolhas de ar sob os dentes.

Sanduíche de três andares
Pipetar a solução em ambos os sanduíches, enchendo cada um para o mesmo nível abaixo da extremidade marcada.

Stacking gel
Encha solução de 3-4 cm abaixo da parte superior da placa de vidro. Esta altura permite 1 cm de empilhamento de gel abaixo da poços. Despeje o gel e aplicar uma sobreposição (ver passo 2). Depois de o gel é definida, preparar o gel de empilhamento como descrito abaixo.

2-D de electroforese (sistema de proteína descontínuo)
Encha solução de monómero a cerca de 1 cm abaixo do topo da placa de vidro para permitir 4-5 mm, para a tira de IPG ou gel tubo e um selo de agarose. (Um gel de empilhamento irá requerer espaço extra). Selar a tira IPG ou gel tubo no lugar com agarose dissolvida em tampão de corrida. Tome cuidado para evitar prender as bolhas de ar entre os géis de primeira e segunda dimensão.

Sobrepor cada gel com uma fina camada de água-butanol saturado, água, ou tampão de gel diluído para evitar a exposição ao oxigénio de gel. Lentamente fornecer a solução de sobreposição de uma seringa de vidro equipada com uma agulha de calibre 22. Aplicar a solução de perto o espaçador menos um lado da sanduíche e permitir que ele flui através da superfície nu.

Permitir que o gel para polimerizar durante um mínimo de 1 h.

Empilhamento preparação de gel

Verter o gel de empilhamento, enquanto a sanduíche é ainda no rodízio de gel. Stacking gel-resolução é ótima quando derramou um pouco antes de eletroforese.

Remover a sobreposição por lavagem da superfície do gel, por várias vezes com água destilada. Inverter o rodízio para drenar. Para garantir um contato contínuo entre a resolver e empilhamento géis, remover o líquido residual borrando um canto com um laboratório de limpar.

Calcular o empilhamento de gel de volume de solução de monómero.

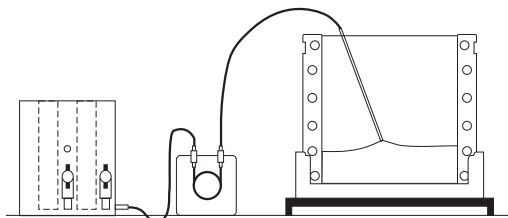
Preparar a solução de monómero de empilhamento-gel, deaerate-lo, e adicionar catalisador e iniciador. Verter o gel de empilhamento sobre o gel de resolução com uma pipeta descartável ou Pasteur a um nível de cerca de 2 mm a partir do topo da placa.

Introduzir um pente (com uma ligeira inclinação) no sanduíche, tomando cuidado para não prender o ar sob os dentes. Permitir um mínimo de 1 h para o gel para polimerizar.

Géis de gradiente

Ambos géis de gradiente linear e exponencial pode ser vertido no refinado dual-gel. Recomendamos usar um Hoefer SG Criador Gradiente Series. Géis de gradiente são derramadas a partir do topo do rodízio com uma cânula de se utilizar o rodízio desde dual-gel ou a partir do fundo se usando um Hoefer Caster Gel múltipla (ver instruções que acompanham o rodízio). Um gel de empilhamento é então vertida sobre o gel de gradiente.

Fig. 5. Derramando um gel de gradiente.

Uma ponta de pipeta pode ser utilizado em vez de uma cânula se a solução de gel é entregue a uma taxa que mantém um fluxo contínuo sobre a superfície do vidro.

Nota: géis de gradiente vertida na Caster Gel SE615 ou SE675 múltipla são introduzidos através do fundo.

Nota: Quando vertendo uma exponencial em gel com gradiente de posição, um êmbolo ou bujão de vedação acima do líquido na câmara de mistura para manter o volume constante.

Verter um gel de gradiente linear

Montar sanduíche (es) para os rodízios dual-gel, como descrito na página 9.

Configure o caminho do fluxo da solução de monômero

Executar um comprimento de tubagem de vinilo clara através de uma bomba peristáltica. Anexar uma extremidade do tubo para a porta de saída gradiente fabricante ea outra extremidade a uma cânula de 20 cm. (A OD da cânula deve ser menor do que a espessura do espaçador.) Coloque a cânula de modo que assenta na parte inferior da sanduíche a meio caminho entre os espaçadores.

Opcional: Ajustar a solução de acrilamida percentagem mais elevada para 15% (w / v) de sacarose ou de 25% (v / v) de glicerol para melhorar camadas.

Preparar a solução de monómero

Calcular o volume de solução de monómero necessário. Dividir o volume total em meia e preparar este volume de ambas as soluções de maior e menor percentagem de acrilamida.

Despeje a solução “light” para a câmara de reservatório (câmara mais afastada da saída). Abrir a torneira entre as câmaras tempo suficiente para deslocar o ar e feche. Despeje a solução “pesado” na câmara de mistura e coloque uma barra de agitação para essa câmara. Coloque o fabricante de gradiente para um agitador magnético e começar a agitação a uma taxa que se mistura bem mas não introduz bolhas na solução.

Misturar o gradiente e bombear a solução para o sanduíche

Enquanto a solução é de agitação, começar a bombear a partir da câmara de mistura e abrir a torneira de passagem para a câmara de reservatório. Elevar a cânula a forma de líquido entra na sanduíche, mantendo a ponta na superfície do gel. Preparar géis mais como requerido.

Sobrepor cada gel com uma fina camada de água-butanol saturado, água, ou tampão de gel diluído para evitar a exposição ao oxigénio de gel. Lentamente fornecer a solução de sobreposição de uma seringa de vidro equipada com uma agulha de calibre 22. Aplicar a solução de perto o espaçador menos um lado da sanduíche e permitir que ele flui através da superfície nu.

Permitir que os géis para polimerizar durante um mínimo de 1 h. Após a polimerização, deitar fora a sobreposição e lavar a superfície do gel várias vezes com água destilada.

Preparar a solução de monômero de empilhamento de gel, derrame o gel de empilhamento, e introduzir um pente (com uma ligeira inclinação) no sanduíche, tomando cuidado para não prender o ar sob os dentes. Permitir um mínimo de 1 h para o gel para polimerizar.

Nota: com Coomassie Blue™ é possível detectar 1 ug de proteína em uma única banda. Com as manchas de prata mais sensíveis, é possível detectar tão pouco como 10 ng de proteína.

Preparação de amostras e Carregando

A amostra pode ser carregado quer enquanto a sanduíche é no refinado ou após a câmara tampão superior está ligado. Quando colocar as amostras ao usar placas divisórias, as amostras devem ser carregados sem a câmara de amortecimento superior no lugar.

A quantidade de amostra carregada depende da espessura do gel, a sensibilidade do método de detecção utilizado, ea quantidade de amostra esperado em cada banda. Em um sistema tampão contínuo, a amostra de proteína deve ser relativamente concentrado, porque nenhum gel de empilhamento é usado. Em um sistema de tampão descontínuo, a zona em que cada espécie molecular migra é afiada pelo gel de empilhamento, de modo a amostra não necessita de ser tão concentrada.

Preparar a poços

Retire o pente-o suavemente para que lado a lado e, em seguida, levantando-o para evitar danificar as paredes também. Cuidadosamente enxaguar cada poço com água destilada para remover acrilamida não polimerizada e depois escoar por sanduíche invertendo o gel (ou rodízio). Encher cada poço com tampão de electroforese.

❷

Preparar a amostra

Aumentar a densidade da amostra líquida com 10% de glicerol ou sacarose. Adicionar um corante de rastreio, tais como vermelho de fenol, azul de bromofenol, ou Y. pironina

Para géis de SDS de proteínas, usar tampão tratamento 2X para desnaturar ambas as amostras de líquido e seco, num tubo de ensaio.

Para soluções de proteína líquidos, adicionar um volume igual de tampão de 2X.

Para secar amostras de proteína, adicionar volumes iguais de tampão de amostra 2X e elevado grau de pureza de água para atingir a concentração desejada.

Aquecer o tubo em água a ferver durante 90 segundos, em seguida, deixa-se arrefecer até à temperatura ambiente. As amostras tratadas podem ser armazenadas a -40 a -80 °C para execuções futuras.

Proteínas de membrana de calor a 60 °C durante 20 minutos. Armazenar amostra utilizada a 4 °C.

Nota: Uma vez que as amostras estão dentro dos poços, tome cuidado para não ranger os sanduíches de modo que as amostras não são derramados ou misturado.

Subjacente à amostra nas cavidades utilizando uma micro-seringa de ponta fina ou gel-carregamento ponta da pipeta.

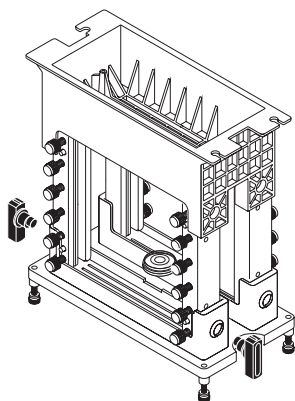
Tabela 1. Volume de amostra para tamanhos padrão pente volume da amostra (uL) por 1 mm de profundidade

número de poços	espessura pente (mm)		
	0,75	1,0	1,5
10	6,2	8,3	12,4
12	5,8	7,7	11,5
15	4,3	5,7	8,6
20	3,1	4,1	6,2
28	2,1	2,7	4,1
1/1 (ref/prep)	4/90	6/121	9/183
1/2 (ref/prep)	4/85	6/112	9/171

Fig. 6. Colocar sanduíches de gel para a câmara de tampão superior.

Se os vazamentos de montagem, levá-lo para uma pia e parcialmente liberar as câmaras para permitir tampão a escorrer para fora da câmara superior. Desmontar, verificar o alinhamento de todos os componentes do sanduíche, e ajustar se necessário.

A. Remova cames pelos buracos inferiores cam. Coloque a câmara superior para os sanduíches e depois inserir os excêntricos nos orifícios excêntricos superiores, cume (ponta curta) apontando para baixo.

B. A posição de câmara final (não mostrado) deve ser vertical, de modo que a montagem se encaixa dentro da câmara inferior tampão.

Montagem Final

Câmara tampão superior

Enxaguar as duas câmaras tampão com água e água destilada completamente antes de cada utilização.

Nota: Antes de utilizar a primeira vez, desmontar a unidade e lava-se com uma solução diluída de um detergente de laboratório e enxaguar primeiro com água e depois com água destilada.

Limpar quaisquer gel aderir ao exterior das sanduíches de gel.

Se você estiver executando apenas um gel: Bloquear o slot segunda câmara superior de buffer através da instalação da barragem tampão de acrílico incluído com a unidade. Coloque grampos para a barragem, tendo o cuidado de alinhar os fins de fixação e as bordas da represa. Instale os fictícios gel, parafusos para fora, no berço em segundo lugar no rodízio gel dual.

Anexar o sanduíche de gel para a câmara de tampão superior

Vire a câmara de amortecimento superior de cabeça para baixo e coloque uma junta encaixada ambos os recessos titular sanduíche. Tanto o slot na junta e no slot no recesso deve alinhar. Ambas as juntas de fenda deve ser usado mesmo se estiver rodando apenas sanduíche de gel um. Grooves ao longo de cada slot de ajudar a manter a junta no lugar. Além disso, uma pequena quantidade de Seal gel pode ser aplicado em cada extremidade da junta de vedação antes de instalar para ajudar a segurar a junta de vedação contra a câmara tampão superior.

Solte os sanduíches do rodízio removendo todas as cams de fundo (se houver). Abaixe a câmara de amortecimento superior para os sanduíches de gel no

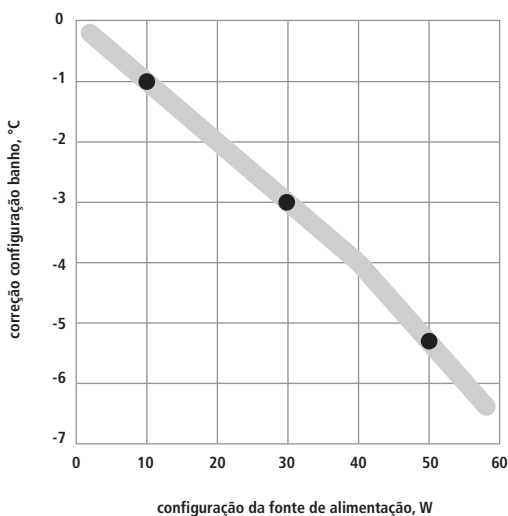
Nota: Não force os excêntricos. Se você encontrar resistência incomum, desmonte e inspecione grampo e alinhamento de vidro na parte superior do sanduíche. Alinhe e reinstale.

estande casting. Instale o cames cume, apontando para baixo, para o buffer de buracos câmara de cames. Prenda o sanduíche no lugar em simultâneo transformando uma câmara no sentido horário eo outro anti-horário a 180 °Completo.

Usar uma pipeta para encher cuidadosamente cada ranhura acima dos poços de amostra com tampão para minimizar perturbar as amostras. Em seguida, despeje 100 ml de tampão para a câmara, dirigindo o fluxo de tampão em direção à parede lateral. Verifique se há vazamentos de tampão em torno da junta.

Câmara inferior tampão

Coloque um bar spin magnético na câmara menor buffer (LBC) e coloque a unidade sobre um agitador magnético. Encher a câmara inferior com até 4 litros de tampão.

Nota: se a opção de arrefecimento é frequentemente utilizado, é conveniente para anexar conectores QuickFit à tubagem. As válvulas nestes acessórios evitar o derramamento do líquido refrigerante.

Abaixe o trocador de calor para a câmara baixa, ajustando as portas para os entalhes na borda. (O trocador de calor deve estar no local para todas as corridas porque o eletrodo inferior é integrado ao trocador de calor.) Se não houver refrigeração é necessária, pule para o passo 3.

Opcional: Ligue o permutador de calor para um circulador termostática. Deslizantes braçadeiras de mangueira (quatro total) em cada extremidade de dois comprimentos de 10 - 12 mm ID. Tubo de vinil ou de silicone Anexar uma extremidade de cada extensão de tubagem a uma porta permutador de calor Anexar as extremidades livres de cada comprimento de tubagem para as portas de banho circulador, uma para a entrada ea. outro para a saída. Fixe as conexões com as abraçadeiras.

Use o gráfico (Fig. 7, na página 20) para estimar um ponto de partida para o ajuste de temperatura de cir-

Fig. 7. Aproximado circulador de ajuste de temperatura do banho. Definir a temperatura do banho de circulação de fixação inferior à temperatura de funcionamento desejada pelo valor indicado no gráfico. Isto deve ser verificado em três pontos.

Exemplo:

Executar parâmetros: 200 V, 0.05 A (50 mA)

1. Calcule W, se sua fonte de alimentação não exibir o poder diretamente:

   W = V × A
   10 W = 200 V × 0.05 A

2. Interpolar o número de graus para subtrair a partir da temperatura de funcionamento desejado.

   10 W intersecta o gráfico menos cerca de -1 °C.
   Se a temperatura desejada é de 23 °C, definir o banho a 23 - 1 = 22 °C.
   Se a temperatura desejada é de 4 °C, definir o banho a 4 - 1 = 3 °C.

culação de banho. Ajustar conforme necessário para as variáveis tais como a temperatura ambiente, as mudanças na saída de potência e eficiência banho circulador. Se o controlo preciso da temperatura é crítica, medir a temperatura e ajustar conforme necessário.

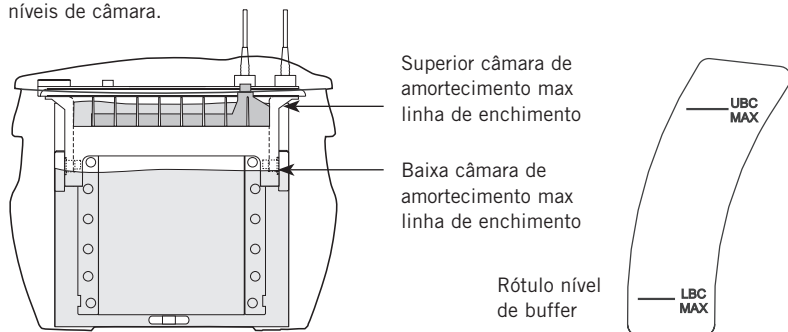
Opcional: buffer do Prechill.

Coloque a montagem da câmara superior do buffer para a câmara inferior buffer. Use uma mão firme para evitar a perturbação das amostras: Segure o conjunto no suporte de fundição pela câmara de amortecimento superior e cuidadosamente coloque-a câmara inferior.

Inspecione a instalação e verificar os níveis de buffer.

Câmara de amortecimento superior (UBC). O eletrodo ao longo do cume câmara superior deve ser submersa a cerca de 1 cm. Este nível requer 450-600 ml de tampão - apenas o suficiente para cobrir as costelas Câmara Alta, mas não alto o suficiente para entrar em contato o plug banana. Não encha acima UBC linha de enchimento MAX.

Câmara inferior tampão (LBC). Preencha a LBC linha de enchimento MAX.

Fig. 8. Superiores e inferiores de buffer de preenchimento níveis de câmara.

Coloque a tampa de segurança da unidade, envolvendo os pinos de travamento de segurança antes de baixar as conexões de eletrodos para as fichas de banana.

Ligue os fios codificados por cores para as tomadas de uma fonte de alimentação aprovado. Ligue o fio vermelho no vermelho tomada de saída e o cabo preto na tomada de saída de preto. Na maioria dos sistemas de chumbo vermelho, o qual é ligado ao eléctrodo de fundo, é o ânodo (+), ea ponta de preto, ligado ao eléctrodo de topo, é o cátodo (-).

Notas importantes montagem:

- **IEF Funciona:** O nível de tampão na câmara inferior tampão nunca devem chegar à câmara de amortecimento superior; manter pelo menos 2 cm de folga.
- Não encha a câmara superior ou inferior, acima dos níveis recomendados ilustrados na Fig. 8. Remover tampão em contato com as mensagens de eletrodos.
- Despeje lentamente tampão e longe das ranhuras na câmara de amortecimento superior para evitar a perturbação das amostras.
- Use apenas água ou 50/50 glicol água / etileno como refrigerante. Nunca use um anticongelante comercial ou qualquer mistura à base de álcool, ou dano irreparável para o trocador de calor irá resultar.
- Não ligue o permutador de calor para uma torneira de água ou qualquer outra fonte, onde a pressão da água não é regulamentada.

Separar a amostra

Nota: SE600 unidade Chroma usa 18 cm de largura placas. A espessura gel determina a seção transversal (e exigência atual) para constantes corridas atuais. O comprimento da placa determina o tempo de execução.

Parâmetros de electroforese para géis de poliacrilamida descontínuos

Géis pode ser executado em ambas corrente constante ou constante configurações de tensão. Um modo de corrente constante é tradicionalmente utilizado com um sistema de tampão descontínuo de modo que a taxa de migração electroforética permanece inalterado durante a execução. Sob essas condições tensão aumenta à medida que as receitas administradas. A menor configuração atual é recomendado para maior resolução. O nível óptimo de corrente deve ser determinada empiricamente, os factores principais que deve ser equilibrado incluem a concentração do gel e da velocidade de migração, e do aquecimento Joule resultante e distorção da banda. Tabela 2 listas de ponto de partida as orientações e ajustes de espessura de gel, o número de géis, e taxa de migração.

Tabela 2: Laemmli sistema tampão de partida directrizes do ponto

espessura gel*	1.5 mm
Gelo atual†	25 mA corrente constante
A partir de tensão‡	80–90 V
tensão final	220–250 V

*Géis mais grossos ou mais finos exigem proporcionalmente mais ou menos corrente. Por exemplo, um gel de 0,75 mm, que é metade da espessura de um gel de 1,5 mm, requer a metade da quantidade de corrente, ou 12,5 mA.

†A corrente deve ser multiplicada pelo número de geles. Por exemplo, se dois sanduíches são instalados, os quatro géis requer quatro vezes mais do que atual. A corrente pode ser aumentada para corre mais rápido se arrefecimento activo é utilizado e que pode ser diminuída para mais lentas corridas durante a noite.

‡Em 25 mA por gel.

Atual

Actos correntes sobre a área de secção transversal total de todos os géis porque os géis são ligados em paralelo, o circuito eléctrico. Assim, a configuração de corrente para um gel deve ser multiplicada pelo número de geles da execução secção transversal simultaneamente. Para um milímetro de espessura 1,5 gel, sugerimos uma definição corrente de partida de 25 mA. (Dois 1,5 géis mm = 50 mA).

Nota: O arrefecimento pode ser necessário para controlar o aquecimento Joule.

Tensão

A tensão de partida para um gel de 1,5 milímetros laje ligado a uma fonte de alimentação definido como 25 mA é geralmente 80-90 V (usando a unidade de SE600 Chroma com um sistema tampão Laemmli descontínuo para SDS géis). A tensão final é tipicamente 250-400 V, dependendo do comprimento do gel. (Ver Tabela 2).

Tempo

Uma execução é geralmente completa quando o corante de rastreio atinge o fundo do gel. Num gel de 16 cm (SE600 Chroma), um 1,5 mm de espessura Laemmli SDS em gel, executar a 25 mA / gel sem arrefecimento, geralmente requer 5 horas.

Registre cada corrida

Atenção: Após monitorização inicial, não deixe o aparelho sem vigilância por mais de 1 h antes de verificar o andamento das bandas e do nível de buffer.

Manter um registo da corrente ou tensão configuração, o número ea espessura do gel, sistema tampão, e as leituras de início e no final de corrente ou tensão para cada percurso de modo que os resultados podem ser comparados. Os resultados inconsistentes para o mesmo sistema e configurações indicam possíveis problemas como vazamento de corrente, as concentrações de buffer incorretos, elevadas concentrações de sal, ou de qualidade química inconsistente.

Verificar o progresso banda após 5 min, e novamente após 1 h, mantendo um olho sobre a taxa de migração do corante de seguimento. A execução está completa quando o corante de rastreio atinge o fundo do gel. Ver o nível de tampão e, se necessário, reabastecer o como necessário para manter o eléctrodo superior submersa. (Um pequeno volume de tampão pode vazar passado uma placa cortado ou junta, ou tampão pode passar através do gel.)

Após a electroforese

Uma vez que o corante de rastreio atinge o fundo do gel, desligar a fonte de alimentação, desligar os fios, e remover a tampa de segurança, usando alavanca dedo entre a tampa ea parte superior do permutador de calor. (Levante-se em linha reta para evitar entortar as fichas de banana).

Se refrigerante está circulando, interromper o fluxo e desconectar os acessórios ou tubulações.

Retire o conjunto câmara superior buffer. Despeje o buffer em uma pia. Instale o conjunto do rodízio gel dupla e em seguida, solte os sanduíches por virar e tirar os excêntricos.

Desapertar as braçadeiras dos sanduíches e remover. Com cuidado, solte e deslize afastado ambos espaçadores. Utilizar a Hoefer Maravilha Wedge Gel ferramenta de separação da placa para separar as placas.

Cuidadosamente levantar a placa de vidro com o gel em anexo. Lidar com o gel com cuidado para evitar danificá-lo. Inverta a placa e posição do gel baixo sobre a bandeja de coloração. Pry um canto do gel de distância a partir do vidro e permitir que ele caia no tabuleiro, ou, se o gel é suficientemente espessa para manusear, levantá-la e colocá-lo dentro da bandeja. Para evitar salpicos, adicionar coloração ou solução fixadora para a bandeja após o gel é transferido.

Limpar a unidade, tal como descrito na secção seguinte.

Cuidados e Manutenção

Limpeza

- Não autoclave ou aquecer qualquer parte acima de 45 °C.
- Não use solventes orgânicos, abrasivos, soluções de limpeza fortes ou ácidos fortes ou bases fortes para limpar as câmaras.
- Não molhe a junta laminada.

Imediatamente depois de cada utilização, lavar as câmaras tampão superior e inferior com água e em seguida enxaguar com água destilada. Lidar com a câmara de amortecimento superior com cuidado para evitar danificar o plug banana. Limpe as juntas com detergente neutro e enxaguar com água destilada. Deixa-se secar ao ar.

Limpar placas de vidro e espaçadores com uma solução diluída de um limpador de laboratório, tais como o RBS-35®, em seguida, enxaguar com torneira e água destilada. Placas de vidro também pode ser tratada com (mas não são armazenados em) soluções de limpeza ácidas.

Substituição de um trocador de calor tubo de vidro

Remover o tubo, por simultaneamente torção e deslizando-a para baixo, tanto quanto possível, até que a extremidade superior está livre da anilha superior. Passe cuidadosamente o tubo de modo que ele irá limpar a montagem, em seguida, levante o tubo para fora da parte inferior do anel.

Nota: Se o tubo antigo está rachado ou quebrado, proteger sua mão com luvas grossas, um pedaço de pano ou toalhas de papel antes de retirar o tubo.

Unte o exterior de ambas as extremidades do tubo novo com gordura de silicone. Torcer e corrediça uma extremidade do tubo para o mais baixo ilhó. Em seguida, deslize a outra extremidade o anel superior, gentilmente empurrando-a com uma leve torção até que ele pare.

Verifique se o anel não é beliscado.

Solução de problemas

problema	causa possível	remédio
Gel vazamentos sanduíche enquanto fundição	Componentes sujos ou danificados	Placas, Espaçadores e da junta deve estar completamente limpa. Lavar, se necessário. Substituir placas fritas (especialmente se endireitada perto dos espaçadores). Verifique a junta rodízio de cortes ou fendas e substituir se necessário.
	Mis-alinhados partes	Verifique o alinhamento Placa e espaçador, realinhar, se necessário.
	Ao longo de aperto	Ligue came apenas na medida do necessário para criar uma vedação (geralmente 90-150°, mas até 180°). Em cada espaçador aplicar uma fina camada de gel composto de vedação para a parte inferior para fora canto só. Não use graxa de silicone.
Exemplo poços danificado ou irregular	As bolhas de ar	Remova as bolhas de ar antes de inserir pentes. Deslize pente em solução em ângulo. Se pente deve ser removida, adicione mais solução de monômero antes de reinserir o pente.
	Polimerização incompleta ou retardada	Permitir géis de acrilamida a ser definido para um mínimo de 1 h.
	Escombros em poços	Enxaguar a gel não polimerizada com tampão de amostra.
	remoção comb	Remover o pente com uma ligeira inclinação e muito devagar para evitar danificar o gel. Géis de agarose: Abaixe o pente não mais do que 1 cm para o gel.
Polimerização incompleta gel	Chemicals	Use apenas ações recentes dos reagentes mais alta qualidade. Se o persulfato de amónio seco não crepitação quando adicionado a água, substituir com estoque fresco. Aumentar TEMED ou concentração APS, ou ambos.
	pH	Soluções com valores extremos de pH ácido (especialmente) não pode polimerizar.
	oxigênio	Remover o oxigénio a partir do ambiente de gel: Degas a solução de monómero min 5-10 antes de verter e depois sobrepor a superfície do gel com água saturada de n-butanol.
	temperatura	Ajustar a temperatura da solução de gel para um mínimo de 20 °C, especialmente para géis de baixa% T.

problema	causa possível	remédio
Vazamentos de câmara superior de buffer	Mis-alinhados partes	Verifique se as placas de vidro, espaçadores e grampos estão alinhadas e se encaixam perfeitamente na vedação da câmara superior. Verificar que ambas as juntas são centradas e que as cristas de posicionamento encaixar no interior das ranhuras.
	Componentes sujos ou danificados	Verifique se a vedação não está danificado ou comprimido. Troque se necessário. Verificar que a câmara de tampão superior não é deformado a uma exposição anterior ao calor excessivo.
Fonte de alimentação detecta vazamento de corrente	Trajetória elétrica ao solo fora / Terra	Adicionar mais graxa de silicone para selar grommets de trocadores de calor. Verifique se há vazamentos ou rachaduras no trocador de calor. Substitua grommets desgastadas.
Dye curvas da frente para cima (risos) nas bordas	Distribuição desigual de calor	Encha a câmara baixa do buffer para o nível apropriado para a corrida nas bordas. (Veja a figura 8, página 21). Use agitador magnético e barra de agitação para manter tampão bem misturado.
	O calor excessivo	Circular ext. refrigerante. Diminua a configuração da corrente ou tensão. Prechill o buffer. Execute o gel na sala fria.
Estrias proteína verticalmente	Partículas em amostra	Centrifugar ou amostra do filtro antes de carregar para remover partículas.
	sobrecarga	Carregar menos amostra.
	degradação	Adicionar inibidor de protease tais como PMSF.
Extraordinariamente lento de execução (ou rápido)	Fuga de corrente em torno de gel	Verifique se há vazamentos, todas as placas e os espaçadores devem estar alinhados e livre de gorduras e rachaduras. Se utilizada, a barragem de buffer deve ser seguro.
	Amostra ou preparação de reagentes	Se o pH requerido de uma solução é ultrapassado, não volta titula-. Descarte e preparar uma solução tampão nova. Verificar receitas, as concentrações de gel e tampão de diluição. (Por exemplo, não utilize Tris-HCl, em vez de Tris para Laemmli tanque tampão.) Diminuir a concentração de sal de amostras.
	qualidade do reagente	Descarte de soluções mais velhos de acrilamida e usar o estoque só da mais alta qualidade. Utilize apenas uréia recém deionizada.
	As configurações de tensão ou corrente	Para aumentar ou diminuir a taxa de migração, ajustar o. Tensão ou corrente por 25-50%

problema	causa possível	remédio
Bandas são enviesadas ou distorcidas	Preparação de gel incompleta e polimerização	Desgaseificar a solução de empilhamento-gel e evitar bolhas de sob os dentes do pente.
	Interface irregular entre o empilhamento e executando os géis	Sobrepor o gel rodando com água saturada de butanol, antes da polimerização começa, para evitar a formação de uma superfície do gel desigual.
	A preparação das amostras	Dialisar ou dessalinizar a amostra.
Corada coleta:		
Perto da frente tampão	concentração do gel	Moléculas não são suficientemente limitada pelo tamanho resolver gel de poro: aumentar a% T.
	degradação	As proteínas podem ser degradados por proteases endógenas: usar os inibidores da protease durante o passo de isolamento.
Perto do topo do gel quando a frente de tampão atingiu o fundo	concentração do gel	O tamanho de poro de gel é muito pequeno: diminuir o T% do gel Resolving (ou empilhamento).
	precipitação	A proteína precipitada. Aquecer a amostra a uma temperatura inferior (70 °C ou menos) para 1 - 2 min.
Tanto a parte superior e inferior do gel	concentração do gel	O intervalo de peso molecular da amostra requer um gradiente de concentração de acrilamida para resolver a gama de tamanhos de proteína.
Controlar corante não afiar para uma zona concentrada no gel de empilhamento	pobre de empilhamento	Despeje um alto gel de empilhamento. (Para melhores resultados, permitir uma altura de empilhamento de gel de 2,5 vezes a altura da amostra no poço.)
	qualidade do reagente	Descarte de soluções de acrilamida desatualizados e utilizar apenas o mais alto grau de acrilamida.
	A preparação das amostras	Ao preparar as amostras, evitar o uso de soluções com altas concentrações de sal.

problema	causa possível	remédio
Resolução banda pobre Poor band resolution	condições de funcionamento	Comece electroforese, logo que a amostra é carregada para evitar espécies de baixo peso molecular a partir de difusão. Realizar a separação em uma configuração mais baixa de corrente ou tensão para reduzir o aquecimento Joule.
	qualidade do reagente	Utilize apenas os reagentes mais alta qualidade.
	pobre de empilhamento	Use géis apenas que foram recentemente preparado. Adicionar um gel de empilhamento ou aumentar a altura do gel de empilhamento. Preparar a superfície Resolving-gel por primeira lavagem com empilhamento de gel de monómero antes de vazar o gel de empilhamento para assegurar a continuidade entre os géis. Verificar valores de pH das resolver-e empilhamento de gel de soluções. Não, titular back-buffers.
	Polimerização incompleta gel	Permitir gel para polimerizar totalmente.
	A preparação das amostras	Armazenar amostra em gelo, antes que seja desnaturado. Dialisar ou dessalinizar a amostra. As amostras de calor em tampão de amostra SDS para não mais do que 1-2 min a 100 °C para melhorar a dissociação das subunidades. Armazenar em gelo após o aquecimento. Ajustar o volume da amostra ou concentração. Adicione mais mercaptoetanol ou ditiotreitol, verificar o tratamento da amostra. Adicionar os inibidores de protease tais como PMSF, se necessário, para evitar a degradação proteolítica da amostra. Aumento de glicerol ou sacarose para aumentar a densidade da amostra. Armazenar as amostras a serem congelados em alíquotas para evitar repetidos de congelamento-descongelamento. Conservar a -40 a- 80 °C.

Bibliografia

Geral

Gallagher, S. R., and Smith, J. A., Electrophoretic separation of proteins. *In Current Protocols in Molecular Biology.* (Ausubel, F. A., eds.), OSC 10.2.1–10.2.21 (1991).

Hames, B. D., and Rickwood, D., *Gel Electrophoresis of Proteins: A Practical Approach:* Second edition, City IRL Press (1990).

Sambrook, J., and Russell, D.W., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual.* Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (2001).

Sasse, J., and Gallagher, S. R., Staining proteins in gels. *Current Protocols in Molecular Biology.* (Ausubel, F. A., *et al.,* eds.), OSC 10.6.1–10.6.8 (1991).

SDS Polyacrylamide Gel Electrophoresis and Isoelectric Focusing Handbook (80-6013-88), Hoefer, Inc. (2001).

Não desnaturantes sistemas de gel

Reisfeld, R. A., *et al.*, Acidic buffer system for resolution of cationic proteins. *Nature.* **195**, 281 (1962).

McLellan, T. Electrophoresis buffers for polyacrylamide gels at various pH values. *Anal. Biochem.* **126**, 94 (1982).

Hedrick, J. L. and Smith, A. J., Size and charge isomer separation and estimation of molecular weights of proteins by discontinuous gel electrophoresis. *Arch. Biochem. Biophys.* **126**, 155 (1968).

Desnaturação sistemas de gel

Laemmli, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T. *Nature.* **227**, 680–685 (1970).

Matsudaira, P. T. and Burgess, D. R., SDS microslab linear gradient polyacrylamide gel electrophoresis. *Anal. Biochem.* **87**, 386–396 (1978).

Schreier, M. H., Erni, B., and Staehelin, T., Initiation of mammalian protein synthesis. I. Purification and characterization of seven initiation factors. *J. Mol. Biol.* Nov; **116**(4):727–753 (1977).

Shapiro, A. L., and Maizel J. V. Jr., Molecular weight estimation of polypeptides by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis: further data concerning resolving power and general considerations. *Anal. Biochem.* Jun; **29**(3):505–514 (1969).

Schaegger, H. and Von Jagow, G., Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. *Anal. Biochem.* **166**, 368–379 (1987).

Weber, K., and Osborn, M., The reliability of molecular weight determinators by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.* **224**, 4406–4412 (1969).

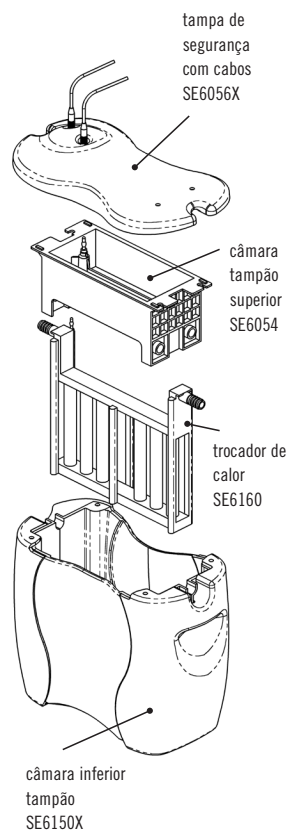
Electroforese bidimensional

Adams, L. D. and Gallagher, S. R., Two-Dimensional Gel Electrophoresis Using the O'Farrell System. *Current Protocols in Molecular Biology*, (Ausubel, F. A., *et al,* eds.), OSC pp. 10.4.1–10.4.13 (1992).

Anderson, N. G., Anderson, N. L., and Tollaksen, S. L., Proteins of human urine. I. Concentration and analysis by two-dimensional electrophoresis. *Clin. Chem.* Jul; **25**(7): 1199–2210 (1979).

Anderson, Leigh and Anderson, Norman G., High resolution two-dimensional electrophoresis of human plasma proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA. **74**:5421–5425 (1977).

Anderson, L. *Two-Dimensional Electrophoresis, Operation of the ISO-DALT® System,* Second Edition. Large Scale Biology Press (1991).

Bravo, R., Schafer, R., Willecke, K., MacDonald-Bravo, H., Fey S. J., and Celis J. E., More than one-third of the discernible mouse polypeptides are not expressed in a Chinese hamster-mouse embryo fibroblast hybrid that retains all mouse chromosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA. Apr; **79**(7):2281–2285 (1982).

Hurkman, W. J., and Tanaka, C. K., Solubilization of Plant Membrane Proteins for Analysis by Two-Dimensional Gel Electrophoresis. *Plant Physiology*. **81**:802–806 (1986).

Mets, L. J. and Bogorad, L. Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis: an improved method for ribosomal proteins. *Anal Biochem.* Jan; **57**(1):200–210 (1974).

O'Farrell, P. H., High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J. Biol. Chem.* May 25; **250**(10):4007–4021 (1975).

Bjellqvist, B., *et al.,* Isoelectric focusing in immobilized pH gradients: principle, methodology and some applications. *J. Biochem. Biophys. Methods* **6**, 317–339 (1982).

Görg, A, *et al.,* The current state of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients. *Electrophoresis* **9**, 531–546 (1988).

Görg, A. Two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients: current state. *Biochem. Soc. Trans.* **21**, 130–132 (1993).

Bjellqvist, B., *et al.,* Micropreparative two-dimensional electrophoresis allowing the separation of samples containing milligram amounts of proteins. *Electrophoresis* **14**, 1375–1378 (1993).

Blomberg, A., *et al.,* Interlaboratory reproducibility of yeast protein patterns analyzed by immobilized pH gradient two-dimensional gel electrophoresis. *Electrophoresis* **16**, 1935–1945 (1995).

Informações sobre pedidos

produto	quantidade	código
SE600 unidade Chroma completo	1	SE600X-15.-1

Inclui: 3 conjuntos de placas de vidro, dois 15-bem pentes, 2 conjuntos de espaçadores de 1,5 mm de espessura, 6 cames, dual-gel estande elenco com a base de nivelamento e, o nível da barragem buffer, modelo de alinhamento Spacer-Mate e Wonder Wedge Separação placa de gel ferramenta.

As peças de reposição

Maravilha Wedge Gel ferramenta Separação Placa	1	SE1514
Juntas de borracha de silicone de fenda para câmara de amortecimento superior	2	SE6008B
Juntas de borracha laminadas de silicone para lançar estande	2	SE6009
barragem tampão	1	SE6032
Câmara tampão superior para SE600 Chroma	1	SE6054
Câmara inferior tampão para SE600 Chroma	1	SE6150X
Tampa com cabos de alta tensão para SE600 Chroma	1	SE6056X
De alta tensão conjunto de chumbo segurança	1	SE6056-HV
Plug Banana, ouro, com 2 arruelas	1	SE6067
SE600 trocador de calor Chroma / montagem eletrodo inferior	1	SE6160
Tubo de vidro com 2 grommets para trocador de calor / montagem eletrodo inferior	1	SE6160-5
Grommets para trocador de calor / montagem eletrodo inferior	4	SE6060-6
nível de bolha	1	SER11
Gel composto Seal, 1/4 oz tubo	1	SE6070
Spacer-Mate	3	SE6119SM

produto	quantidade	código

Rodinhas de gel

Para 1 ou 2 géis:

Rodízio Gel Dupla basic, 2 gels, 18-cm wide	1	SE6015

Inclui: 2 juntas em branco para 1 ou 2 géis. (Um incluídos com cada unidade SE600 Chroma.)

Para até 4 géis:

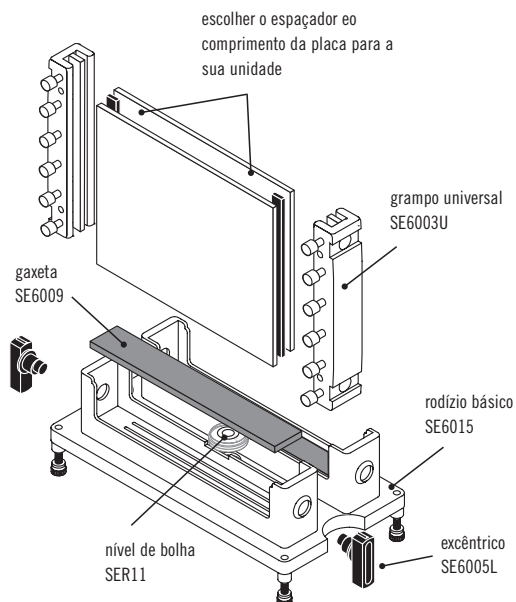
Kit Caster Gel, 4 gels, 18 × 16 cm	1	SE675

Inclui: 8 placas de vidro, 3 espaço saver-chapas, 5 folhas de preenchimento, 100 folhas de papel de cera, espaçador-Mate modelo de alinhamento e tampões de enchimento. (Ordem pentes e espaçadores separadamente.)

Para até 10 géis:

Kit Caster múltipla Gel, 10 gels, 18 × 16 cm	1	SE615

Inclui: 20 placas de vidro, o espaço-saver placa, 5 folhas de preenchimento, 100 folhas de papel modelo de cera de alinhamento, Spacer-Mate e as fichas de preenchimento. (Ordem pentes e espaçadores separadamente.)

produto	quantidade	código
Grampos e cames		
Grampo e Cam Kit, quatro grampos 16 cm e 8 cames negros	1	SE6003UK
Parafusos de reposição para grampos	12	SE6003U-2
Câmaras, preto, para grampos com buracos cam	4	SE6005L
Grampo assembléias, 16 cm	2	SE6003U
Grampo assembléias, 8 cm	2	SE6403U
Placas de vidro		
18 × 8 cm		
Placas de vidro	2	SE6402
Placa de vidro, divisor de sanduíche, entalhado	1	SE6402D
18 × 16 cm		
Placas de vidro	2	SE6102
Placa de vidro, divisor de sanduíche, entalhado	1	SE6102D

Pente

número de poços	espessura (mm)	largura (mm)	quantidade	código
10	0,75	8,3	1	SE511-10-,75
10	1,00	8,3	1	SE511-10-1,0
10	1,50	8,3	1	SE511-10-1,5
12	0,75	7,6	1	SE511-12-,75
12	1,00	7,6	1	SE511-12-1,0
12	1,50	7,6	1	SE511-12-1,5
15	0,75	5,7	1	SE511-15-,75
15	1,00	5,7	1	SE511-15-1,0
15	1,50	5,7	1	SE511-15-1,5
20	0,75	4,1	1	SE511-20-,75
20	1,00	4,1	1	SE511-20-1,0
20	1,50	4,1	1	SE511-20-1,5
28[a]	0,75	2,7	1	SE511-28-,75
28[a]	1,00	2,7	1	SE511-28-1,0
28[a]	1,50	2,7	1	SE511-28-1,5

[a]Pente profundidade de 15 mm; todos os outros 25 mm.

Preparativa pentes

Estes pentes são de 25 mm de profundidade, ajustável a 10 ou 15 mm.

número de poços prep/ref	espessura (mm)	largura (mm) prep/ref	quantidade	código
1/1	0,75	121/6	1	SE511-R-,75
1/1	1	121/6	1	SE511-R-1,0
1/1	1,50	121/6	1	SE511-R-1,5
1/2	0,75	113/6	1	SE511-DR-,75
1/2	1	113/6	1	SE511-DR-1,0
1/2	1,50	113/6	1	SE511-DR-1,5

Volta pente ajustável 1 SE511-BKA

Necessária para converter qualquer pente 25-mm de profundidade para 10 ou 15 mm de profundidade.

Espaçadores

espessura (mm)	comprimento (cm)	largura (cm)	quantidade	código
0.75	8	2	2	SE6419-2-.75
1.0	8	2	2	SE6419-2-1.0
1.5	8	2	2	SE6419-2-1.5
0.75	16	2	2	SE6119-2-.75
1.0	16	2	2	SE6119-2-1.0
1.5	16	2	2	SE6119-2-1.5
1.0	16	1	2	SE6118-2-1.0
1.5	16	1	2	SE6118-2-1.5

Produtos associados

Hoefer SE 100 lavagem mate Plate e unidade de armazenamento	1	SE100
QuickFit conectores, fêmea 3/8"	2	QF3/8
QuickFit conectores, macho 3/8"	2	QFX3/8